

DIALOG(R)File 352:DERWENT WPI
(c)1998 Derwent Info Ltd. All rts. reserv.

008993587

WPI Acc No: 92-120855/*199215*

XRAM Acc No: C92-056606

Antiulcer agent - contains lipocortin

Patent Assignee: SUNTORY LTD (SUNR)

Number of Countries: 001 Number of Patents: 001

Patent Family:

Patent No	Kind	Date	Applicat No	Kind	Date	Main IPC	Week
JP 4066538	A	19920302	JP 90175390	A	19900704		199215 B

Priority Applications (No Type Date): JP 90175390 A 19900704

Language, Pages: JP 4066538 (5)

Abstract (Basic): JP 4066538 A

A new antiulcer agent contains lipocortin.

Lipocortin is usually obtd. by collecting the blood and then the neutrophilic leukocytes from the blood, destroying the cells, making the lipocortin adsorbed by ribosomes, treating with EGTA, removing the calcium portion and treating through column chromatography. For clinical applications, natural lipocortin obtd. by genetic procedures is pref. used to meet the requirements of economy and mass prodn. Available agent forms include tablet, capsule, granule, powder, liq. agent, injection, external agents and suppositories. For oral agents, available supports include starch, lactose, white sugar, mannitol, and inorganic salts. Additives are opt. added, including binders, collapsing agents, lubricants, fluidity promoters, colourants and perfumes. Available diluents for parenteral agents include distilled water for injection, aq. glucose soln., plant oils for injection, propylene glycol and polyethylene glycol. The dosage for adults is usually 5-10mg lipocortin/kg in 1-3 pts..

USE/ADVANTAGE - The agent has a high antiulcer effect and high safety.

In an example, the agent reduced the ulcer coefft. of Wister rats from the original 32.6 + 8.4mm for a control gp. to 14.5mm for the 40 micro-gram/ml, 16.0mm for the 80 micro-gram/ml, 13.5mm for the 160 micro-gram/ml and 5.00 for the 320 micro-gram/ml dosage.

Dwg.0/0

Derwent Class: A96; B04

BEST AVAILABLE COPY

⑫ 公開特許公報 (A) 平4-66538

⑤ Int.Cl.⁵
A 61 K 37/02識別記号
ACL府内整理番号
8317-4C

⑩ 公開 平成4年(1992)3月2日

審査請求 未請求 請求項の数 1 (全5頁)

⑥ 発明の名称 抗潰瘍剤

⑦ 特 願 平2-175390

⑧ 出 願 平2(1990)7月4日

⑨ 発明者 田中 良和 大阪府三島郡島本町若山台1丁目1番1号 サントリー株式会社基礎研究所内

⑩ 発明者 佐藤 英介 高知県南国市岡豊町小蓮617

⑪ 発明者 内海 耕輔 高知県高知市高須1823-1 A-402

⑫ 発明者 井上 正康 熊本県熊本市池田3丁目49番3号

⑬ 出願人 サントリー株式会社 大阪府大阪市北区堂島浜2丁目1番40号

⑭ 代理人 弁理士 小野 信夫

明細書

1. 発明の名称

抗潰瘍剤

2. 特許請求の範囲

(1) リポコルチンを有効成分として含有する抗潰瘍剤。

3. 発明の詳細な説明

[産業上の利用分野]

本発明は、抗潰瘍剤に関し、更に詳細には胃や十二指腸に発生する消化性潰瘍の予防や治療に使用される抗潰瘍剤に関するものである。

[従来の技術及びその課題]

胃や十二指腸に発生する消化性潰瘍は、胃液にさらされている範囲内の消化管壁に於ける部分的な組織欠損であり、一般に消化管組織の粘膜筋板以上の組織欠損を指す。

従来、消化性潰瘍は、塩酸やペプシン、壁細胞集塊、粘膜外傷等の攻撃因子と、粘膜抵抗、粘膜、局所粘膜血液循環等の防御因子との間のバランスの崩れに起因するものとされ

ており、これらに対応した種々の抗潰瘍剤が開発されている。

例えば、攻撃因子抑制剤としては、制酸剤、抗コリン剤、抗ペプシン剤、抗ガストリン剤、H₂受容体拮抗剤、プロトンポンプ抑制剤等があり、また、防御因子増強剤としては、粘膜保護剤、粘液分泌促進剤、微小循環改善剤、組織代謝賦活剤、プラスタグラシン製剤及びプロスタグランシン合成促進剤等が知られている。

これらの薬剤によって、消化性潰瘍を内科的に治療することが多い場合可能にはなってきているが、上記したように、消化性潰瘍には多くの因子が関係しているので、一種類の薬剤ですべて治療できるわけではなく、更に新しい抗潰瘍剤の開発が求められている。

[課題を解決するための手段]

本発明者は、種々の化合物についてその薬理作用を検討していたところ、プロスタグラシンやロイコトリエン等の产生抑制や免疫反応抑制作用を有することが知られているリ

ボコルチンが抗潰瘍作用を有することを見いだし本発明を完成した。

すなわち本発明は、リボコルチンを有効成分として含有する抗潰瘍剤を提供するものである。

本発明において用いられるリボコルチンは、グルココルチコイドの抗炎症作用のメカニズムを解明する過程で発見されたタンパク質であり、好中球等に存在する。

このリボコルチンを精製物として得るには、例えばサトウらの方法 (Sato et al, FEBS Lett., 227, p131(1988))により、まず血液を採取し、血中の好中球を集め、その細胞を破壊し、次いで、カルシウムの存在下でリボコルチンをリボソームに吸着させた後、EGTA (キレート) 处理を行い、カルシウムを除去後通常のカラムクロマトグラフ処理に付せば良い。

しかし、臨床で使用するには、大量のリボコルチンを安価に入手することが要求される

ので、遺伝子操作によって得られる天然型リボコルチンを利用することが好ましい。

具体的な遺伝子操作によって天然型リボコルチンを取得するための方法は、例えば出願人らが先に見いだしているので(特開平1-203930号)、この方法に従えばよい。

本発明の抗潰瘍剤を調製するには、有効量のリボコルチンを公知の医薬用担体に配合し、常法により製剤化すればよい。

本発明の抗潰瘍剤の投与形態については特に制限はなく、錠剤、カプセル剤、顆粒剤、細粒剤、散剤、液剤等の経口剤や、注射剤、外用剤、坐剤等の非経口剤のいずれによっても投与することができる。

医薬用担体は、投与形態及び剤型に応じて選択することができるが、経口剤の場合は、例えばデンブン、乳糖、白糖、マンニット、カルボキシメチルセルロース、コーンスター、無機塩等が利用され、更に、結合剤、崩壊剤、界面活性剤、滑潤剤、流動性促進剤、

着色剤、香料等を配合することができる。

より具体的には、デンブン、デキストリン、アラビアゴム末、ゼラチン、ヒドロキシプロピルスターチ、メチルセルロース、カルボキシメチルセルロースナトリウム、ヒドロキシプロピルセルロース、結晶セルロース、エチルセルロース、ポリビニルビロリドン、マクロゴール等の結合剤、デンブン、ヒドロキシプロピルスターチ、カルボキシメチルセルロースナトリウム、カルボキシメチルセルロースカルシウム、カルボキシメチルセルロース、低置換ヒドロキシプロピルセルロース等の崩壊剤、ラウリル硫酸ナトリウム、大豆レシチン、ショ糖脂肪酸エステル、ポリソルベート80等の界面活性剤、タルク、ロウ類、水系添加植物油、ショ糖脂肪酸エステル、ステアリン酸マグネシウム、ステアリン酸カルシウム、ステアリン酸アルミニウム、ポリエチレンジコール等の滑潤剤、軽質無水ケイ酸、

乾燥水酸化アルミニウムゲル、合成ケイ酸アルミニウム、ケイ酸マグネシウム等の流動性促進剤が挙げられる。

また、経口用の液剤として、懸濁液、エマルジョン剤、シロップ剤、エリキシル剤とすることができ、これらの各種剤型には着色、防腐剤、着色剤を配合することもできる。

更に、非経口剤は、常法に従い本発明の有効成分を希釈剤としての注射用蒸留水、生理食塩水、ブドウ糖水溶液、注射用植物油、ゴマ油、ラッカセイ油、ダイズ油、トウモロコシ油、プロピレンジコール、ポリエチレンジコール等に溶解ないし懸濁させ、必要に応じて、殺菌剤、防腐剤、安定剤、等強化剤、無痛化剤等を加えることにより調製される。

その他の非経口剤としては、外用液剤、軟膏剤等の塗布剤、直腸内投与のための坐剤等が挙げられ、これらは常法にしたがって調製される。

本発明の抗潰瘍剤は、経口及び非経口によ

り投与することができるが、例えば、経口投与する場合は、大人一人1日あたりリポコルチンとして5~10mg/kgを1~3回に分け、服用すれば良い。

【作用】

リポコルチンのどのような作用が胃潰瘍の発生を抑制するかについては、未だ明確でない部分もあるが、白血球の遊走を抑えることにより、胃粘膜病変の発生を抑制するものと考えられている。

【発明の効果】

本発明の抗潰瘍剤の有効成分であるリポコルチンは、後記実施例にも示すように優れた抗潰瘍作用を有し、しかも、実験動物にかなりな量を投与しても全く死亡例が発生しないだけでなく、臓器に対する障害も引き起こさないことからも理解されるように、安全性も高いものである。

従って、本発明の抗潰瘍剤は、新しい消化性潰瘍の予防、治療剤として有用なものであ

る。

【実施例】

次に実施例、参考例及び製剤例を挙げ、本発明を更に詳しく説明する。

参考例

(1) リポコルチン遺伝子の酵母発現ベク

ターへの導入:

基本的にサトウらの方法 (Sato et al., FEBS Lett. 244, 108, (1989)) に従いモルモットのリポコルチンcDNAを得た。しかし、佐藤らの方法では発現可能な形の完全長cDNAが得られないもので、完全長cDNAを以下のようにして構築した。

すなわち、佐藤らの方法により得たリポコルチンのcDNAを含むクローンのDNA λ gpL7, λ gpL8及びcDNA中の制限酵素HhaI部位とBglII部位を含む λ gpL9の計3種から、制限酵素EcoRIでcDNAの断片を切り出し、これをpUC9にサブクローンングした。得られたサブクローンをそれぞれ

pGPL7, pGPL8, pGPL9とした。 λ GPL7からBglIIとSalIで切り出される約800bpのDNA断片、pGPL9からBglIIとHhaIで切り出される約200bpのDNA断片およびpGPL8からHhaIとEcoRIで切り出される約400bpのDNA断片の3種を、pYHCC101(特開平1-37291号参照; 尚、pYHCC101で形質転換された酵母はサッカロマイセス・セレビシエ SAM 0750(*Saccharomyces cerevisiae* SAM 0750)と命名され、工業技術院微生物工業研究所に微研菌寄第9475号(FERM P-9475)として寄託されている)からEcoRIとSalIで切り出される約8Kbの断片と共にライゲーションし、pYGPL100を得た。このプラスミドは、大腸菌と酵母のシャトルベクターであり、大腸菌での選択マーカーとしてアンピシリン耐性遺伝子を、酵母での選択マーカーとしてTRP1遺伝子を持ち、酵母においてリポコルチン遺伝子が酵母のプロモーターであるグリセルアルデヒド3リン酸デヒドロゲナーゼプロモー

ターの制御下に転写される。組換えDNAに関する方法は例えばマニアティスら(Maniatis et al., Molecular Cloning, Cold Spring Lab., (1982))の方法によった。又、制限酵素等は東洋紡株式会社から購入した。

(2) 酵母でのリポコルチンの発現:

pYGPL100で酵母G-1315株(Mat α , trp1; Yoshizumi et al. J. Jpn. Soc. Starch Sci., 34, 148, (1987))を形質転換した。形質転換は伊東らの方法(Ito et al., J. Bacteriol. 159, 163 (1987))によった。トリプトファンの合成能の回復した形質転換株をG-1315(pYGPL100)とした(尚、この形質転換体は、サッカロマイセス・セレビシエ SAM 1382(*Saccharomyces cerevisiae* SAM 1382)と命名され、微生物工業技術研究所に微研菌寄第10850号(FERM-P-10850)として寄託されている)。

この形質転換株を、2mlのパークホルダー培

地 (Burkholder et al., Am. J. Bot., 30, 206, (1943)) 中、30°Cで40時間振盪培養した。1.5mlを集菌法、ヤッフェらの方法 (Yaffe et al., Proc. Natl. Acad. Sci. USA., 81, 4819 (1984)) で酵母菌体から蛋白質を得て、SODポリアクリルアミドゲル電気泳動を行なった。泳動後、ウェスタンブロティングを行ない、抗モルモットリボコルチソウ抗体を用いる酵素抗体法（例えば、今堀ら、総合化学実験講座 蛋白質の化学、東京化学同人(1987)）により、その抗体と反応するものを検出したところ、一本のバンドがみられ、その位置は天然のモルモットリボコルチソウのものと一致していた。従って、酵母においてリボコルチソウが発現したことが確認できた。又、このことから組換えリボコルチソウは天然のリボコルチソウと免疫化学的に同じであることがわかる。

(3) リボコルチソウの精製:

G-1315(pYGPL100)を10mlのバークホルダ

ー培地にて培養して約300グラムの菌体を得た。この酵母を、20mMトリス塩酸(pH7.5)、1mM EGTA、1mM APNSe、0.01%ロイペブチソウに懸濁し、ビーズビーダー（バイオスペックプロダクツ社）にて、菌体を破壊した。遠心分離により菌体の断片などを除去したものを出発物質として、カルシウム存在下にリボソーム膜に結合させる佐藤らの方法 (Sato et al., FEBS Lett., 227, 131, (1988)) により、SDS-PAGE-PAGE電気泳動法において単一なバンドをなす組換えリボコルチソウを得た。その移動度は天然のものと同じであった。また組換えリボコルチソウも天然リボコルチソウと同様にカルシウム存在下でリボソームに結合することもわかった。

実施例

ストレス性胃潰瘍にたいする

保護効果:

広田らの方法（胃粘膜病変とフリーラジカル、日本医学館刊 63 (1987) 参照）

に従い、リボコルチソウのストレス性胃潰瘍にたいする保護効果を調べた。

すなわち、参考例で得た組換えリボコルチソウを16時間絶食したウイスター系ラット(220g)に様々なドーズで腹腔内投与し、30分経過後、無麻酔下でラットに水槽拘束負荷(22°C、6時間)を与えた。ついで、ラットの胃を取り出し、胃粘膜を1%ホルマリンで固定後、生じた潰瘍の長さを測定し、これから潰瘍係数を求めた。

この結果を第1表に示す。

(以下余白)

第 1 表

投与量 (μg/ラット)	潰瘍係数 (mm)
0(対照)	32.6 ± 8.4
40	14.5
80	16.0
160	13.5
320	5.0

この結果から明らかのように、リボコルチソウは胃潰瘍の発生を明らかに抑制している。

また、リボコルチソウの投与による臓器の障害を調べたが、何れの投与によっても障害は認められなかった。

製剤例

顆粒・細粒剤:

ポリビニルピロリドン(コリドン30)1

部を滅菌精製水に溶かし、ここにアスコルビン酸10部及びL-システイン・塩酸塩5部を加え、均一な溶液としたのち、リポコルチソ10部を加え均一とした。

この溶液を賦形剤（マンニトールまたは乳糖）59部及び崩壊剤（コーン・スターチまたはヒドロキシプロピルセルロース（SH-22））15部に加え練合、造粒し、乾燥させた後緑別した。

製剤例2

錠 剤 :

製剤例1で作った活性成分の均一溶液に、乳糖58部、微結晶セルロース15部を混合したのち、更にステアリン酸マグネシウム1部を加え混合し、打錠して錠剤を得た。

製剤例3

カプセル剤 :

製剤例1で作った剤形の物をカプセルに充

填した。但し、潤滑剤としてステアリン酸マグネシウムを0.2%添加して製剤したもの用いた。

製剤例4

注 射 剤 :

リポコルチソ	1.5 g
アスコルビン酸	1.5 g
L-システイン・塩酸塩	0.5 g
マンニトール	6.5 g

上記成分を滅菌精製水に溶かし、100mLとして除菌したものを、1mLまたは2mLずつバイアルまたはアンブルに取り、凍結乾燥後密封して注射剤を得た。

製剤例5

座 剤 :

リポコルチソ	150部
アスコルビン酸	150部
L-システイン・塩酸塩	50部

上記成分を用い、均一な粉末にしたものをカカオ油9950部に分散させ、座剤を得た。

以 上

出 製 人 サントリー株式会社

代理 人 弁理士 小野信



**This Page is Inserted by IFW Indexing and Scanning
Operations and is not part of the Official Record**

BEST AVAILABLE IMAGES

Defective images within this document are accurate representations of the original documents submitted by the applicant.

Defects in the images include but are not limited to the items checked:

- BLACK BORDERS**
- IMAGE CUT OFF AT TOP, BOTTOM OR SIDES**
- FADED TEXT OR DRAWING**
- BLURRED OR ILLEGIBLE TEXT OR DRAWING**
- SKEWED/SLANTED IMAGES**
- COLOR OR BLACK AND WHITE PHOTOGRAPHS**
- GRAY SCALE DOCUMENTS**
- LINES OR MARKS ON ORIGINAL DOCUMENT**
- REFERENCE(S) OR EXHIBIT(S) SUBMITTED ARE POOR QUALITY**
- OTHER:** _____

IMAGES ARE BEST AVAILABLE COPY.

As rescanning these documents will not correct the image problems checked, please do not report these problems to the IFW Image Problem Mailbox.